Beiträge zur Kenntnis

des

Hämatins und seiner Spaltungsprodukte.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

einer

hohen naturwissenschaftlichen Fakultät

der

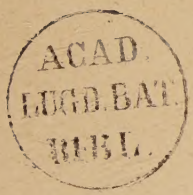
Eberhard-Karls-Universität zu Tübingen

vorgelegt

von

Martin Kölle

aus Stuttgart.



Tübingen 1898.

Verlag von Franz Pietzcker.

Angenommen von der Fakultät am 3. August 1898.

BUCHDRUCKEREI G. SCHNÜRLEN IN TÜBINGEN.

Vorliegende Arbeit wurde auf Anregung des Herrn Privatdozent Dr. W. KÜSTER im physiologisch-chemischen Institut der Universität Tübingen ausgeführt.

Es sei mir an dieser Stelle gestattet, meinen hochverehrten Lehrern, Herrn Professor Dr. VON HÜFNER und Herrn Dr. KÜSTER für ihr jederzeit grosses Interesse und die gütige Unterstützung bei dieser Arbeit meinen aufrichtigsten Dank auszusprechen.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41552309_0199

I. Teil.

Spaltungsprodukte des Hämatins.

Der eisenhaltige Farbstoff der roten Blutkörperchen, das Hämatin, welchem nach NENCKI die empirische Zusammensetzung $C_{32} H_{32} N_4 Fe O_4$ zukommt, erleidet in eisessigsaurer Lösung durch die Einwirkung von dichromsaurem Natrium eine mit Hydrolyse verbundene Oxydation. Trägt man die gesättigte wässerige Lösung des Oxydationsmittels in solcher Menge ein, dass sie, auf die Molekel Hämatin berechnet, zwölf Atomen Sauerstoff entspricht, so entstehen auf das angewendete Hämatin bezogen ungefähr 45 Prozent der ätherlöslichen zweibasischen Hämatinsäure $C_8 H_{10} O_5$; ausserdem bleiben etwa 40 Prozent eines eisenhaltigen Körpers zurück. Nur geringe Mengen des Kohlenstoffs werden als Kohlensäure abgespalten.[1] [2])

Nach diesen Resultaten war es nicht unmöglich, dass noch weitere Spaltungsprodukte des Hämatins bei der erwähnten Reaktion entstehen, denn die Quantität der erhaltenen Hämatinsäuren entspricht bei einem Kohlenstoffgehalt von ungefähr 52 Prozent etwa der Hälfte des Kohlenstoffs im Hämatin, wenn man die unvermeidlichen Verluste in Rechnung zieht. Das eisen- und stickstoffhaltige Produkt endlich war von wechselnder Zusammensetzung, enthielt aber stets bedeutende Mengen von Aschenbestandteilen, sodass in demselben kaum der Rest des Kohlenstoffs und jedenfalls nicht aller Stickstoff enthalten sein konnte. Es lag deshalb die Vermutung nahe, dass in der von der Hämatinsäure durch Ausäthern be-

1) Ber. d. d. chem. Ges. 29, 821 und 30, 105.

2) VÖLTER, Beiträge zur Kenntnis des Hämatins und seiner Oxydaonsprodukte. Inaug.-Dissertation, Tübingen 1897.

freiten Flüssigkeit noch organische Basen enthalten waren; andererseits konnten auch beim Abdestillieren des als Lösungsmittel dienenden Eisessigs flüchtige organische Verbindungen mit übergegangen sein. Zur Aufklärung dieser Verhältnisse wurden folgende Versuche angestellt, deren wesentliche Resultate ich vorweg nehme:

Als basisches Spaltungsprodukt des Hämatins konnte nur Ammoniak aufgefunden werden; flüchtige organische Säuren oder reduzierende Körper nachzuweisen, gelang nicht.

A. Ammoniak als Spaltungsprodukt des Hämatins.

Die von der Hämatinsäure durch Ausäthern befreite Oxydationsflüssigkeit, welche das Chrom als Sulfat enthält, wurde unter beständigem Kühlen mit Natronlauge versetzt, bis gerade alkalische Reaktion eingetreten war und das Chromhydroxyd sich abgeschieden hatte. Darauf wurden die flüchtigen Basen mit Wasserdampf übergetrieben. Das Destillat, welches in einer mit ungefähr einprozentiger Salzsäure beschickten Vorlage aufgefangen wurde, reagierte anfangs stark alkalisch und besass einen schwachen Geruch nach Aminbasen. Die erhaltene salzsaure Lösung derselben wurde auf dem Wasserbade zur Trocken verdampft und der Rückstand zweimal umkrystallisiert, wobei salmiakähnliche Aggregate erhalten wurden. Ein Teil derselben wurde direkt analysiert, aus dem andern das Platindoppelsalz dargestellt.

0,2665 gr des Doppelsalzes gaben als Rückstand 0,117 gr Platin.

Berechnet für $PtCl_6(NH_4)_2$:	Gefunden:
Platin = 43,85 Prozent.	43,90 Prozent.

0,3335 gr salzsaures Salz lieferten 0,0025 Kohlensäure und 0,230 Wasser.

Berechnet für NH_4Cl:	Gefunden:
C = — Proz.	Spuren
H = 7,54 „	7,66 Proz.

Durch diese Analysen wurde also das nicht erwartete Resultat erhalten, dass keine flüchtigen organischen Basen, sondern nur Ammoniak [1]) als Spaltungsprodukt des Hämatins entstehen. Hiebei sei auch bemerkt, dass durch Äther oder ein anderes bequemes Lösungsmittel ebensowenig basische Körper extrahiert werden können. Auch andere Verfahren zur Isolierung etwa vorhandener Basen lieferten kein Resultat, vielleicht dass die grosse Menge der anwesenden anorganischen Salze eine Fällung verhinderte. So gab die mit Schwefelsäure angesäuerte Lösung durch Alkaloidreagentien keine Fällung. Auch Phenylhydrazin gab in der essigsauren Lösung beim Erhitzen im Wasserbade keine Abscheidung.

Qualitativ war also Ammoniak nachgewiesen, es fragte sich, wie gross die Menge desselben war. Zu diesem Zweck wurden bei zwei Versuchen, bei welchen je 5 gr Hämatin zur Oxydation gelangten, die flüchtigen Bestandteile erschöpfend übergetrieben, und alsdann das in Salzsäure aufgefangene Destillat in einer gewogenen Schale zur Trockne verdampft.

Erhalten wurden:

I. 0,86 gr NH_4Cl

II. 0,75 „ „

Diese entsprechen aber:

für I $\frac{14 \times 0{,}86}{57{,}5} = 0{,}225$ gr Stickstoff

für II $\frac{14 \times 0{,}75}{57{,}5} = 0{,}183$ „ „

Da nun in 5 gr Hämatin $\frac{5 \times 56}{592} = 0{,}463$ gr Stickstoff enthalten sind, so ergiebt sich das gewiss nicht uninteressante Resultat, dass — bei den auch hier unvermeidlichen Verlusten darf man wohl sagen —, gerade die Hälfte des im Hämatin vorhandenen Stickstoffs als Ammoniak abgespalten wird.

1) Nicht unerwähnt will ich lassen, dass die angewendeten Reagentien — dichromsaures Natrium, Natronlauge etc. — auf ihren etwaigen Gehalt an Ammoniak untersucht wurden, jedoch mit negativem Resultate.

B. Untersuchung auf Spaltungsprodukte des Hämatins nicht basischer Natur.

Auf die angegebene Weise war nachgewiesen worden, dass organische Basen sich höchstwahrscheinlich nicht unter den Spaltungsprodukten des Hämatins befinden. Auch verlief die Prüfung auf anderweitige organische Körper in der nach dem Abfiltrieren vom Chromhydroxyd erhaltenen Flüssigkeit völlig negativ. Es war nun noch denkbar, dass sich beim Abdestillieren des zur ursprünglichen Lösung des Hämatinschlamms verwendeten Eisessigs [1]) nach vollendeter Oxydation anderweitige organische Produkte verflüchtigten. Diese Destillation wurde im Vakuum ausgeführt, wobei es gelang, den Eisessig fast vollständig zu entfernen. Es wurden nun die zuerst übergegangenen Anteile auf ihre etwaigen Fähigkeiten zu reduzieren untersucht; indessen konnte nichts derartiges nachgewiesen werden.

In dem einen Falle bestand die sehr geringfügige, niedrig siedende Fraktion aus essigsaurem Amylester. Dies kam daher, dass hier ein nach dem NENCKI'schen Verfahren gewonnenes Hämin angewendet worden war, und das Auftreten des Esters giebt wiederum einen Beweis dafür, wie schwer es ist, den so dargestellten Häminkrystallen ihren Amylalkohol zu rauben.

Dann wurden die zuletzt übergehenden Teile in die Natriumsalze übergeführt, aus diesen die Säure regeneriert und wiederum im Vakuum fraktioniert. Hiebei ging aber fast die ganze Menge der Säure bei konstanter Temperatur über und erwies sich als Essigsäure.

Die Versuche, etwa höhere Homologe derselben zu fassen, glückten nicht, was auch, wenn sie in geringer Menge vorhanden gewesen sind, nicht Wunder nehmen kann; da bei der grossen Menge der Essigsäure — es bedürfen 5 gr Hämatin

1) W. KÜSTER, Beiträge zur Kenntnis des Hämatins. Tübingen 1896. Seite 36.

mindestens 300 gr Eisessigs zur Lösung — das Ziel ausserordentlich schwer zu erreichen war.

C. Oxydation des Hämatins in alkalischer Lösung.

Um aber zu erfahren, ob sich flüchtige Homologe der Essigsäure bilden, wurde die Oxydation des Hämatins in alkalischer Lösung vorgenommen. Das Verfahren war folgendes:

5 gr frisch gefälltes Hämatin wurden mit Hilfe von 22 gr Kaliumhydroxyd in heissem Wasser gelöst und dieser Flüssigkeit nach dem Erkalten im Laufe eines Tages eine konzentrierte Lösung von 44 gr Ferricyankalium zugesetzt. Diese entsprechen 8 Atomen Sauerstoff. Da 2 Grammmoleküle (660 gr) Ferricyankalium 1 Atom Sauerstoff abgeben und das Hämatin ein Molekulargewicht von 592 hat, so brauchen 5 gr Hämatin $\frac{660 \times 5}{592} = 5{,}57$ gr Ferricyankalium, um mit 1 Atom Sauerstoff oxydiert zu werden, also für 8 Atome 44,6 gr. Zur Beendigung der Oxydation wurde noch solange auf dem Wasserbade erwärmt, bis alles Ferrisalz reduziert war, was mittelst Silbernitrat nachgewiesen wurde. Der ganze Prozess nahm etwa zwei Stunden in Anspruch. Darauf wurde mit verdünnter Schwefelsäure angesäuert und solange auf dem Wasserbade schwach erwärmt, bis der Geruch nach Blausäure vollständig verschwunden war. Von dem dabei entstandenen Niederschlag, der wohl aus Berliner Blau und dem unangegriffenen Hämatinrest bestand, wurde abgesaugt und die Flüssigkeit ausgeäthert.

Von 5 gr wurden 1,2 gr eines gelben Syrups erhalten, in dem sich bald Krystalle zeigten, die den sehr charakteristischen Formen glichen, in welchen das Lakton $C_8H_8O_5$ der dreibasischen Hämatinsäure zu krystallisieren pflegt. Zur sichern Feststellung dieses Ergebnisses, das übrigens nach dem im hiesigen Institut von VÖLTER erlangten Resultat zu erwarten war, wurde die nicht vollständig einheitliche Krystallmasse in Wasser gelöst und durch Eintragen von Calciumkarbonat in der Kälte das Calciumsalz dargestellt. Beim Erwärmen der

filtrierten Lösung im Wasserbade schied sich der charakteristische Niederschlag ab. [1])

Wie sich aus folgender Analyse ergiebt, bestand er aus dem Calciumsalz der dreibasischen Hämatinsäure.

0,824 gr Substanz ergaben bei der quantitativen Bestimmung des Calcium 0,230 Calciumoxyd = 0,164 Calcium.

Berechnet für $C_{32} H_{28} Ca_5 O_{23}$:	Gefunden:
Ca = 20,4 Proz.	19,9 Proz.

Daneben war eine Säure entstanden, deren Calciumsalz, weil in der Wärme löslich, leicht von dem der Hämatinsäure zu trennen war. Die Menge desselben war jedoch so gering, dass es nicht weiter untersucht werden konnte.

Zur Prüfung auf flüchtige Homologe der Essigsäure wurde die schwefelsaure, ausgeätherte Oxydationsflüssigkeit der Wasserdampfdestillation unterworfen. Da anzunehmen ist, dass bei dem schwachen Erwärmen behufs Verjagung der Blausäure sich keine anderen Säuren verflüchtigten, so ist hiedurch bewiesen, dass sich keine flüchtigen Homologe der Essigsäure bilden.

Der mit Berliner Blau vermengte unangegriffene Rest des Hämatins wurde nun ohne Berücksichtigung des ersteren einer weitern Oxydation unterzogen; und zwar nochmals mit 8 Atomen. Das Ergebnis war wieder eine allerdings etwas geringere Menge krystallisierender Säure. Zu ihrer Charakterisierung wurde wie oben das Calciumsalz dargestellt. Die Analyse desselben ergab:

0,828 gr Substanz lieferten 0,239 Calciumoxyd = 0,167 Calcium.

Berechnet für $C_{32} H_{28} Ca_5 O_{23}$:	Gefunden:
Ca = 20,4 Proz.	20,41 Proz.

Es bestand also das zweite Oxydationsprodukt wiederum aus dreibasischer Hämatinsäure.

1) Völter, Beiträge zur Kenntnis des Hämatins und seiner Oxydationsprodukte. Inaug.-Dissertation, Tübingen 1897.

D. Das eisenhaltige Oxydationsprodukt des Hämatins.

Der schon oft erwähnte, bei der mit 12 Atomen Sauerstoff vorgenommenen Oxydation des Hämatins erhaltene eisenhaltige Rückstand, welcher sich nach dem Abdestillieren des zur Lösung benutzten Eisessigs beim Aufnehmen des zähen Rückstands in Wasser ausscheidet, stellt ausgewaschen und getrocknet ein kaffeebraunes, äusserst feines Pulver dar, das in Eisessig und andern organischen Solventien unlöslich ist, leicht aber in Alkalien und durch Natriumkarbonatlösung aufgenommen werden kann. Obgleich eine Garantie für seine Einheitlichkeit nicht vorlag, wurde er analysiert, nachdem er mit Hilfe von Soda gelöst, mit verdünnter Schwefelsäure gefällt, völlig ausgewaschen und bei 110° getrocknet worden war. In frisch gefälltem Zustande zeigt er sich als brauner, voluminöser Schlamm, welcher dem des Hämatins ausserordentlich ähnlich ist; in getrocknetem Zustand jedoch sieht er tiefschwarz, metallglänzend aus und hat ein weit kleineres Volumen.

Es lieferten 0,305 gr dieses Körpers bei der Verbrennung 0,6055 CO_2 und 0,150 H_2O.

Im Schiffchen blieben 0,025 Asche.

Diese, ein schwärzliches Pulver darstellend, war weder in Salzsäure noch in Königswasser löslich und enthielt neben Eisen noch Chrom. Zur quantitativen Trennung wurde das Ganze durch Schmelzen mit Soda und Salpeter aufgeschlossen, die Schmelze in Wasser gelöst und vom zurückbleibenden Eisenoxyd abfiltriert. Letzteres wurde in konzentrierter Salzsäure gelöst, auf bekannte Weise gefällt und als Eisenoxyd bestimmt. Das Filtrat wurde mit Essigsäure angesäuert und das Chrom als Bleichromat gefällt.

Es wurden erhalten:

0,0355 gr Fe_2O_3 und
0,0220 gr $PbCrO_4$

woraus sich berechnet:	Die im Schiffchen zurückgebliebene Asche beträgt, wie schon erwähnt:
Fe = 0,0211 gr	
Cr = 0,0036 gr	
Fe + Cr = 0,0247 gr	0,025 gr = 8,19 Proz.

In Prozenten ausgedrückt

berechnen sich für fe und Cr zusammen:	beträgt die Asche:
7,99 Proz.	8,19 Proz.

Merkwürdigerweise beträgt also die Summe der Metalle an sich schon so viel, wie überhaupt Asche erhalten wurde, sodass letztere aus den Elementen selbst und nicht aus ihren Oxyden zu bestehen scheint.

Der Stickstoff wurde nach DUMAS bestimmt, wobei 0,2135 gr Substanz bei einem Barometerstande von 714 mm und einer Temperatur von 18° 17,4 ccm Stickstoff lieferten.

Für Kohlenstoff, Wasserstoff[1]) und Stickstoff berechnen sich aus den erhaltenen Zahlen folgende Werte:

Der eisenhaltige Rückstand enthält:	Das Hämatin enthält:
C = 54,14 Proz.	64,86 Proz.
H = 5,96 „	5,40 „
N = 8,81 „	9,46 „
Fe (+ Cr) = 8,19 „	9,46 „
O = 22,90 „	10,88 „

Das Oxydationsprodukt enthält also bedeutend weniger Kohlenstoff, mehr Sauerstoff, dagegen fast die gleiche Menge Wasserstoff und Stickstoff wie das Hämatin. Da es zu ungefähr 40 Prozent vom angewandten Hämatin entsteht, enthält es auch etwa die Hälfte des im verwendeten Hämatin vorhandenen Stickstoffs, während die andere als Ammoniak abgespalten wird.

Um nähere Aufklärung über die Zusammensetzung dieses Körpers zu erhalten, wurde zur weiteren Oxydation geschritten. Und zwar wurde Kaliumpermanganat in alkalischer Lösung verwendet. Das Verfahren war folgendes: 5 gr des Körpers

1) Siehe Seite 40.

wurden mit Hilfe von Soda in heissem Wasser gelöst und nach dem Abkühlen 50 ccm einer vierprozentigen Kaliumpermanganatlösung nach und nach (im Laufe von 2 Tagen) eingetragen. Nehmen wir an, der Körper sei einheitlicher Natur und sein Molekulargewicht etwa dem des Hämatins gleich, so wäre also die Molekel mit 2 Atomen Sauerstoff oxydiert worden.

Nach Verlauf von 2 Tagen war alles Permanganat verbraucht, was sich daran erkennen liess, dass beim Erwärmen des Filtrats mit Alkohol kein Manganschlamm mehr abgeschieden wurde. Ein Erhitzen war also nicht mehr erforderlich und vom Manganschlamm wurde sofort abfiltriert. Das mit Schwefelsäure angesäuerte Filtrat wurde nach dem Entfernen des entstandenen braunen, flockigen Niederschlags mit Äther ausgezogen, der nach dem Verdunsten einen braunen, bald zu hämatinsäureähnlichen Krystallen erstarrenden Syrup zurückliess. Die Krystalle wurden in Wasser gelöst und das Calciumsalz durch Eintragen von Calciumkarbonat dargestellt. Beim Erhitzen der filtrierten Lösung fiel aber nichts aus, weshalb dieselbe zur Trockne verdampft und die Säure regeneriert wurde. Wieder bekam ich die charakteristischen Krystalle der dreibasischen Hämatinsäure, und der Gedanke lag nahe, dass die Gegenwart des Calciumsalzes einer andern Säure das der dreibasischen Hämatinsäure am Ausfallen verhinderte.

Es konnte dies umsoeher angenommen werden, als schon öfter beobachtet wurde, dass wenn geringe Mengen einer stickstoffhaltigen Säure zugegen waren, das Calciumsalz der dreibasischen Hämatinsäure nicht mehr wie gewöhnlich beim Erhitzen auf 90° ausfällt.

Zur Kontrolle wurde daher von der erhaltenen Säure wieder das Calciumsalz in der Kälte bereitet, und diesmal trat in der That beim Erwärmen der erwartete Niederschlag ein. Nur eine ganz geringe Menge Calciumsalz blieb in Lösung, das selbst bei längerem Erhitzen nicht ausfiel. Der Niederschlag wurde abfiltriert, getrocknet und analysiert.

Er erwies sich durch folgende Analyse als das Calciumsalz von Dr. KÜSTER's dreibasischer Hämatinsäure.

0,0695 gr Substanz lieferten 0,020 gr Calciumoxyd = 0,0143 gr Calcium.

Berechnet für $C_{32} H_{28} Cu_5 O_{23}$:	Gefunden:
Ca = 20,4 Proz.	20,57 Proz.

Aus den erhaltenen Resultaten lässt sich nun allerdings für die Konstitution des Hämatins noch kein sicherer Schluss ziehen. Wohl aber geht aus den angegebenen Versuchen bei der schrittweisen Oxydation in alkalischer Lösung hervor, dass sich immer wieder Komplexe von der Hämatinmolekel loslösen, welche in $C_8 H_8 O_5$ übergehen und dass fast die Hälfte vom Kohlenstoff des Hämatins in Gestalt der Hämatinsäuren erhalten wird.

Da ferner keine andern kohlenstoffhaltigen Produkte daneben entstehen, ausser dem eisenhaltigen Körper, der 40 Prozent vom Hämatin ausmacht, dieser aber bei weiterer Oxydation wieder Hämatinsäure giebt, so dürfte die Vermutung nahe liegen, das Hämatin bestehe nur aus Komplexen, die sich zu den Hämatinsäuren abbauen lassen.

Wahrscheinlich ist es symmetrisch gebaut, denn wie NENCKI zeigte,[1]) zerfällt es durch Bromwasserstoff in eisessigsaurer Lösung in Hämatoporphyrin $C_{16} H_{18} N_2 O_3$, welche Reaktion fast quantitativ verläuft und letzteres giebt bei der Oxydation ebenfalls die Hämatinsäuren.[2])

Es kann endlich angenommen werden, dass das Eisen durch Cyangruppen in der Molekel festgehalten ist, welche bei der hydrolytischen Spaltung verseift werden; zum mindesten dürfte dies bei zwei Stickstoffatomen der Fall sein, denn die Hälfte des Stickstoffs wurde ja als Ammoniak bei den obigen Versuchen wieder gefunden.

1) Archiv für exp. Pathol. und Pharmak. XXIV, 430.
2) W. KÜSTER, Ber. d. d. chem. Ges. 30, 105.

II. Teil.

Über die Hämatinsäuren.

Als wichtigste Spaltungsprodukte des Hämatins treten aber die ätherlöslichen Hämatinsäuren in den Vordergrund des Interesses. Die Ermittlung ihrer Konstitution musste um so eher auch für die des Hämatins in Betracht kommen, als von mir nachgewiesen werden konnte, dass sie, wie das Hämatin selbst, in Beziehung zum Pyrrol stehen. Denn als das Ammonsalz der zweibasischen Hämatinsäure in einer gläsernen Retorte der trocknen Destillation unterworfen wurde, ging schon bei niederer Temperatur ein gelbbraunes Öl über, das intensiv nach Pyrrol roch und einen mit Salzsäure befeuchteten Fichtenspahn karminrot färbte. Daneben wurden noch geringe Mengen eines sofort krystallisierenden Produkts erhalten. Das Öl giebt mit Wasser eine gelbliche Lösung, die sich mit Salzsäure angesäuert und eingedampft, nach und nach stark rötet und zuletzt ein amorphes, glänzendes Harz abscheidet. Alle diese Eigenschaften hat es mit einem von Nencki und Sieber direkt aus dem Hämatin gewonnenen Produkt gemein. Nencki und Sieber erhielten es, als sie eine mit Zinn und Salzsäure behandelte alkoholische Häminlösung nach dem Übersättigen mit Alkali der Destillation unterwarfen.[1])

Wenn man dazu nimmt, dass man beim Arbeiten mit Hämatinsäure immer wieder auf das noch zu erwähnende braune, neutral reagierende, amorphe Pulver stösst, das ebenso beim Furan und Pyrrol erhalten wird, so kann man der Vermutung Raum geben, dass im Hämatin, wie in seinen Oxydationspro-

1) Archiv für exper. Pathol. und Pharmak. XVIII. 418.

dukten der Pyrrolring, wenn auch nicht schon vorgebildet ist, so doch leicht durch chemische Eingriffe entsteht.

Die zweibasische Hämatinsäure $C_8 H_{10} O_5$ ist nach den bisherigen Betrachtungen als primäres Spaltungsprodukt des Hämatins anzusehen. Sie ist von VÖLTER eingehender in seiner Dissertation beschrieben worden.[1]) Ich stellte noch das Cadmiumsalz dieser Säure her, welches sich in charakteristischer Weise erhalten liess.

Das Cadmiumsalz der zweibasischen Hämatinsäure.

Die wässerige Lösung der Rohsäure wird in der Kälte mit einem Überschuss von frisch gefälltem, in Wasser suspendiertem Cadmiumhydroxyd versetzt. Letzteres wurde verwendet, da das Carbonat von der Säure nicht oder kaum angegriffen wurde. Vom ungelöst gebliebenen Cadmiumhydroxyd wurde abfiltriert, der grösste Teil der Flüssigkeit zuerst im Vakuumapparat bei 70° und der Rest im evakuierten Exsikkator über Schwefelsäure verdampft. Es blieben noch etwas gelbliche Krystallaggregate zurück, die aus wenig Wasser umkrystallisiert in feinen, farblosen, zu Drusen vereinigten Nadeln erhalten wurden. Löst man das Salz in wenig heissem Wasser und bringt die Lösung sofort in Eis, so krystallisiert der grösste Teil des Salzes in kurzer Zeit aus und zwar in der eben beschriebenen Form. Aus wässeriger Lösung durch absoluten Alkohol gefällt, stellt das Cadmiumsalz einen flockigen, amorphen Niederschlag dar, der jedoch nach tagelangem Stehen wiederum Krystallform annimmt.

Bei der Analyse des Salzes verloren 0,3605 Substanz beim Trocknen bei 110° 0,007 Wasser und lieferten 0,108 Cadmiumsulfid = 0,084 Cadmium.

Berechnet für $(C_8 H_9 O_5)_2 + \frac{1}{2} H_2 O$:		Gefunden:
Cd =	22,83 Proz.	23,30 Proz.
$H_2 O$ =	1,83 „	1,94 „

1) Inaug.-Dissertation Tübingen 1897.

Zur Aufklärung der Konstitution der zweibasischen Hämatinsäure versuchte ich, Reduktionsprodukte zu gewinnen und kam auf folgende Weise zum Ziel.

Versuche zur Reduktion der Hämatinsäuren.

Je 1 gr des sauren, ätherlöslichen Oxydationsprodukts des Hämatins, welches wesentlich zweibasische Hämatinsäure enthalten sollte, wurde mit 10 ccm Jodwasserstoff vom spezifischen Gewicht 1,96 im zugeschmolzenen Rohre 10 Stunden auf 150° erhitzt. Beim Öffnen der Röhre zeigte sich, dass nur mässiger Druck vorhanden war. Ihr Inhalt stellte eine braune, stark sauer reagierende Flüssigkeit dar, welche mit schwefliger Säure gesättigt wurde. Während sie sich dabei entfärbte, schied sich am Boden des Gefässes ein zähes, braunes Öl ab. In diesem war das Reduktionsprodukt enthalten; es löste sich in Äther und blieb nach Abdestillieren desselben als zäher, dunkler Firnis zurück, in dem offenbar ein jodiertes Produkt enthalten war. Ohne eine Isolierung desselben zu versuchen,[1]) wurde der Firniss mit konzentrierter Sodalösung solange erwärmt, bis eine farblose klare Flüssigkeit entstanden war und dann längere Zeit mit einem Überschuss von dreiprozentigem Natriumamalgam behandelt. Die vom Quecksilber abgegossene Lösung wurde mit Schwefelsäure angesäuert, ausgeäthert und der Äther abdestilliert. Es blieb eine aus Nadeln bestehende Krystallmasse zurück, die von anhängendem Jod noch bräunlich gefärbt war. Sie konnte aber leicht von diesem durch Chloroform befreit werden, da sie sich in demselben nicht merklich löste.

In diesem Rohprodukt lag nun in der That eine reduzierte Hämatinsäure vor, denn eine kleine Probe derselben erwies sich gegen Kaliumpermanganat in alkalischer Lösung sehr beständig, während bekanntlich Hämatinsäure sofort unter Entfärbung oxydiert wird.

1) cf. Ciamician und Silber, Ber. d. d. chem. Ges. 30. 505.

Um das Reduktionsprodukt daher von etwa beigemengten Anteilen ungesättigter Säuren zu befreien, konnte die von A. v. Baeyer eingeführte,[1]) so oft schon angewandte Behandlung mit Kaliumpermanganat[2]) auch hier mit gutem Erfolge angewandt werden.

Die rohe Säure wurde in verdünnter Natriumkarbonatlösung aufgenommen und mit einer zweiprozentigen Lösung von Kaliumpermanganatlösung bis zur bleibenden Rotfärbung versetzt. Nach etwa 12stündigem Stehen wurde von der geringen Menge gebildeten Manganschlamms abfiltriert, angesäuert und wieder ausgeäthert. Beim Abdestillieren des Äthers schieden sich jetzt, noch ehe das Lösungsmittel im Wasserbade ganz verjagt war, weisse Krystalle ab, die nach dem vollständigen Verdampfen des Äthers aus Wasser umkrystallisiert wurden. Die so erhaltene Säure stellt dünne Prismen dar und erweist sich, wie erwähnt, als eine gesättigte Verbindung, indem sie Kaliumpermanganat in alkalischer Lösung selbst nach tagelangem Stehen nicht mehr entfärbt.

Sie schmilzt bei 145°, ist leicht löslich in Wasser, Alkohol, Aceton und Essigester, langsam in kaltem und schwer löslich in heissem Äther, unlöslich in Chloroform, Benzol und Ligroin. Bis auf 110° erhitzt, erleidet sie keinerlei Veränderung. Die Analyse liess auf eine Säure von der Zusammensetzung $C_8 H_{12} O_6$ schliessen:

I 0,1175 gr Substanz lieferten 0,2015 CO_2 und 0,0625 $H_2 O$
II 0,103 „ „ „ 0,177 „ „ 0,048 „
III 0,1675 „ „ „ 0,289 „ „ 0,092 „

Berechnet für $C_8 H_{12} O_6$:	Gefunden:		
	I	II	III
C = 47,06 Proz.	46,76 Proz.	46,87 Proz.	47,05 Proz.
H = 5,88 „	5,91 „	5,93 „	5,91 „

1) Ann. 245, 148.
2) Ciamician und Silber, Ber. d. d. chem. Ges. 30. 555.

Die Molekulargewichtsbestimmung nach der Siedemethode bestätigte die angegebene Formel.

Dieselbe wurde im BECKMANN'schen Apparat ausgeführt. Lösungsmittel: Essigester, K = 29,44.[1])

Essigester	Substanz in Grammen	Δ	Gefundenes Molekulargewicht	Berechnetes Molekulargewicht
19,0 gr	0,2245	0,148	235	204
—	0,3215	0,225	221	—
—	0,5215	0,400	202	—
—	0,7115	0,582	189	—

Die neue Säure ist ferner dreibasisch, wie sich aus der Titration ergiebt.

Titration der Säure $C_8 H_{12} O_6$.

I. 0,077 gr Säure wurden in Wasser gelöst und verbrauchten zur Neutralisation 11,6 ccm $^1/_{10}$ Normalnatronlauge. Ist $C_8 H_{12} O_6$ dreibasisch, so berechnen sich 11,3 ccm $^1/_{10}$ Normalnatronlauge.

II. 0,177 gr Säure wurden in 50 ccm $^1/_{10}$ Normalnatronlauge gelöst und zum Zurücktitrieren 23,5 ccm $^1/_{10}$ Normalschwefelsäure gebraucht. Also waren 26,5 ccm $^1/_{10}$ Normalnatronlauge zur Neutralisation der Säure nötig, während sich 26 ccm für die dreibasische Säure berechnen.

Salze der Säure $C_8 H_{12} O_6$.

Das Silbersalz $C_8 H_9 Ag_3 O_6$:

Dasselbe wurde aus der mit Ammoniak neutralisierten weingeistigen Lösung der Säure durch Eintragen einer alkoholischen Silbernitratlösung gewonnen. Es fiel als weisser, voluminöser Niederschlag aus, der mit Alkohol gewaschen und im Vakuum getrocknet wurde. Im Luftbad bei 100° erleidet

1) cf. G. FUCHS, Anleitung zur Molekulargewichtsbestimmung, Seite 27. bei W. ENGELMANN, Leipzig.

das amorphe weisse Salz eine schwache Gelbfärbung, ohne sich jedoch zu zersetzen. Das Silber wurde als Chlorsilber bestimmt.

0,282 gr Substanz gaben 0,232 Chlorsilber = 0,174 Silber.

Berechnet für $C_8 H_9 Ag_3 O_6$:	Gefunden:
Ag = 61,76 Proz.	61,70 Proz.

Das Calciumsalz $(C_8 H_9 O_6)_2 Ca_3 + H_2 O$:

Zur Darstellung des Calciumsalzes digerierte ich die wässerige Lösung der Säure längere Zeit mit einem Überschuss von Calciumkarbonat, worauf filtriert wurde, das Filtrat wurde erst auf dem Wasserbad und dann im Vakuum verdunstet. Das Salz blieb als glänzend weisse, gummiartige, spröde Masse zurück, die nicht zur Krystallisation gebracht werden konnte.

Das Calcium wurde als Calciumoxyd bestimmt.

0,267 gr Substanz verloren bei 100° 0,0084 gr Wasser und gaben 0,082 gr Calciumoxyd = 0,0585 gr Calcium.

Berechnet für $(C_8 H_9 O_6)_2 Ca_3 + H_2 O$:	Gefunden:
Ca = 22,22 Proz.	21,90 Proz.
$H_2 O$ = 3,33 „	3,15 „

Das Cadmiumsalz $(C_8 H_9 O_6)_2 Cd_3 + 2 H_2 O$:

Die Darstellung geschah ähnlich der des Calciumsalzes durch Digerieren der wässerigen Lösung der Säure mit Cadmiumkarbonat. Man erhält es als feines weisses Pulver. Das Cadmium wurde als Sulfid bestimmt. Beim Trocknen verloren 0,2156 gr Substanz 0,01 gr Wasser und gaben 0,120 gr Cadmiumsulfid = 0,0932 gr Cadmium.

Berechnet für $(C_8 H_9 O_6)_2 Cd_3 + 2 H_2 O$:	Gefunden:
Cd = 43,41 Proz.	43,27 Proz.
$H_2 O$ = 4,65 „	4,64 „

Das Kupfersalz $(C_8 H_9 O_6)_2 Cu_3$:

Zu seiner Darstellung wurde die wässerige Lösung der Säure mit Ammoniak neutralisiert, zum Sieden erhitzt und die

siedende Flüssigkeit mit Kupfersulfatlösung im Überschuss versetzt. Es fiel ein voluminöser, grüner Niederschlag aus, der aufs Filter gebracht, mit heissem Wasser ausgewaschen und zuerst im Vakuum dann bei 100° getrocknet wurde. Er stellt ein dunkelgrünes, amorphes Pulver dar.

Das Kupfer wurde als Sulfür bestimmt.

0,4475 gr Substanz lieferten 0,180 gr Kupfersulfür = 0,1435 gr Kupfer.

Berechnet für $(C_8 H_9 O_6)_2 Cu_3$:	Gefunden:
Cu = 32,09 Proz.	32,09 Proz.

Der Methylester der Säure $C_8 H_{12} O_6$.

Dieser wurde aus dem bei 100° getrockneten Silbersalz bereitet, indem 2 gr desselben in einem Kölbchen mit Benzol und der berechneten Menge Jodmethyl übergossen und im Wasserbade am Rückflusskühler einige Stunden bei 50—60° erwärmt wurden. Nachdem die Reaktion eingetreten war, was sich an der Bildung von gelbem Jodsilber erkennen liess, wurde von letzterem abfiltriert, mit Alkohol nachgewaschen und das Filtrat auf dem Wasserbade eingedampft. Der Ester bleibt als gelbliches Öl zurück, das mit Wasser gewaschen, getrocknet und dann mehrfach mit wasserfreiem Äther gereinigt wurde. Es waren jedoch diese, wie noch verschiedene andere Versuche, den Ester krystallinisch zu erhalten, vergeblich. Selbst nach wochenlangem Stehen blieb er noch ölig. In dem von Siwoloboff angegebenen Apparate siedete der Ester unter allmählicher Zersetzung bei 210°.

Aus den angegebenen analytischen Resultaten folgt also für die neue Säure (welcher ich den Namen Hämotrikarbonsäure einstweilen beilegen möchte), die empirische Formel $C_8 H_{12} O_6$.

Dies Resultat war überraschend, da nach den im hiesigen Laboratorium gemachten Erfahrungen das von mir verwendete

Rohprodukt die zweibasische Hämatinsäure enthalten musste, der die Zusammensetzung $C_8 H_{10} O_5$ zukommt.

Demnach hätte der Jodwasserstoff einfach hydrolytisch gewirkt, wenn nicht etwa die leicht Sauerstoff aufnehmende zweibasische Hämatinsäure durch freies Jod bereits zu der dreibasischen Hämatinsäure $C_8 H_{10} O_6$, beziehungsweise ihrem Lakton $C_8 H_8 O_5$ oxydiert worden wäre. Dies konnte aber durch das Experiment nicht bestätigt werden. So wurde denn versucht, den Jodwasserstoff durch andere Säuren zu ersetzen.

Einmal wurde die Hämatinsäure mit zehnprozentiger Schwefelsäure im offenen Kölbchen eine halbe Stunde gekocht und beim zweiten Versuch wurde sie, mit Salzsäure im Rohr eingeschlossen, drei Stunden im Wasserbade auf 100° erhitzt. Beide Versuche schlugen aber fehl, insofern eine gesättigte, Kaliumpermanganat nicht entfärbende Säure nicht erhalten, vielmehr jedesmal wieder unveränderte Hämatinsäure zurückgewonnen wurde und zwar in verminderter Ausbeute, denn beide Male wurde ein Teil derselben in ein braunes, amorphes Pulver verwandelt.

Da nun ausserdem die Ausbeuten an $C_8 H_{12} O_6$ sehr zu wünschen übrig lassen, — sie betrugen meist nur 35 Prozent der theoretisch berechneten Menge —, lag die Annahme nahe, dass sich die Säure $C_8 H_{12} O_6$ lediglich aus den geringen Mengen $C_8 H_{10} O_6$ gebildet hatte, welche sich fast regelmässig in dem Rohprodukt der Oxydation des Hämatins vorfinden, selbst nachdem dieses durch die Calciumsalze gereinigt worden ist.

Die Säure $C_8 H_{10} O_6$ hat nun bisher nicht dargestellt werden können, statt ihrer wird immer der um die Elemente des Wassers ärmere Körper $C_8 H_8 O_5$ gewonnen, der durch seine eminente Krystallisationsfähigkeit ausgezeichnet ist. Auch von ihm steht noch nicht fest, ob er als ein Säureanhydrid oder ein Lakton aufzufassen ist, das heisst also, ob $C_8 H_{10} O_6$ eine Trikarbonsäure von der Formel I, oder eine Dioxydikarbonsäure von der Formel II ist.

I

$$C_5H_7 \cdot \begin{matrix} COOH \\ COOH \\ COOH \end{matrix}$$

II

$$C_6H_6 \cdot \begin{matrix} COOH \\ COOH \\ OH \\ OH \end{matrix}$$

Um darüber Aufschluss zu erhalten, ob die neue Säure $C_8H_{12}O_6$, die jedenfalls eine Trikarbonsäure ist, als ein direktes Reduktionsprodukt einer nach Schema I gebauten Säure aufzufassen sei, oder ob man annehmen müsse, dass sie durch eine mit Umlagerung verbundene Reduktion aus einer nach Schema II gebildeten Säure entstanden sei, schien es von Wichtigkeit, die betreffende Säure auf ihr Verhalten gegen Ammoniak oder auch Anilin zu prüfen.

Ist $C_8H_8O_5$ das Anhydrid einer Trikarbonsäure, etwa von folgender Formel:

$$C_5H_7 \cdot \begin{matrix} COOH \\ CO \\ CO \end{matrix} \!\!>\!\! O$$

so könnte sich bei der Einwirkung von Ammoniak ein Körper von der Formel:

$$C_8H_{17}N_3O_5 = C_5H_7 \cdot \begin{matrix} CO \cdot NH_2 \\ COONH_4 \\ COONH_4 \end{matrix}$$

bilden, liegt aber in $C_8H_8O_5$ das Lakton einer Dioxydikarbonsäure etwa von folgendem Bau vor:

$$C_6H_6 \cdot \begin{matrix} COOH \\ CO \\ O \\ \overline{OH} \end{matrix}$$

so ist die Bildung eines Produkts von folgender Formel möglich:

$$C_8H_{14}N_2O_5 = C_6H_6 \begin{matrix} COONH_4 \\ CO \cdot NH_2 \\ OH \\ OH \end{matrix}$$

Vorausgesetzt ist, dass die Carboxyle sämtlich an der Reaktion teilnehmen.

Einwirkung von Ammoniak auf das Anhydrid der dreibasischen Hämatinsäure.

Die reine trockene Substanz wurde in der gerade nötigen Menge wasserfreien Äthers gelöst und in die Lösung trockenes Ammoniakgas eingeleitet. Sofort fiel ein pulveriger, weisser Körper aus, der nach ungefähr 5 Minuten langem Einleiten rasch abgesaugt mit Äther nachgewaschen und in den Exsikkator gebracht wurde. Der Körper hat jedoch dermassen Neigung, Wasser aufzunehmen, dass er, einmal an die Luft gebracht, selbst im Vakuum über Schwefelsäure nicht mehr getrocknet werden konnte. Er konnte auch nicht durch Umkrystallisieren aus Chloroform trocken erhalten werden, weil er darin vollständig unlöslich ist. Dies war z. B. FITTIG bei dem ebenso hygroskopischen Oxyvalerianamid geglückt.[1])

Den Körper so zu analysieren, war daher nicht möglich. Er wurde gleich in Wasser aufgenommen, um ihm Gelegenheit zu geben, sich vollständig damit zu verbinden, und nach dem Verdunsten des Lösungsmittels im Vakuum in weissen, salmiakähnlichen Krystallen erhalten.

Die wässerige Lösung zeigte saure Reaktion und die daraus erhaltenen Krystalle waren nicht mehr hygroskopisch.

Bei der Schmelzpunktbestimmung zeigte sich, dass der Körper bei 100° eine allmähliche Zersetzung erleidet und bei 110° vollständig schmilzt.

Die Analyse ergab folgende Resultate:

I. 0,124 gr im Vakuum getrocknete Substanz lieferten 0,081 gr Wasser und 0,172 gr Kohlendioxyd.

II. 0,137 gr Substanz lieferten 0,091 gr Wasser und 0,190 gr Kohlendioxyd.

Die Stickstoffbestimmung wurde nach DUMAS ausgeführt und ergab folgende Werte:

---

1) Anm. 256. 151.

I. 0,168 gr Substanz lieferten bei 733 mm Barometerstand und 23° Celsius 17,0 ccm Stickstoff.

II. 0,159 gr Substanz lieferten bei 742 mm Barometerstand und 12° Celsius 15,8 ccm Stickstoff.

Berechnet für $C_8 H_{18} N_2 O_7$:	Gefunden:	
	I.	II.
C = 37,79 Proz.	37,83 Proz.	37,82 Proz.
H = 7,04 „	7,25 „	7,38 „
N = 11,02 „	11,50 „	10,98 „

Hiernach schien also ein Körper vorzuliegen, der aus $C_8 H_8 O_5$ durch Aufnahme von 2 Molekeln NH_3 und 2 Molekeln H_2O entstanden war; es fragte sich, ob 1 Molekel H_2O zur Konstitution gehöre, oder beide. Doch war eine Krystallwasserbestimmung nicht möglich, da der Körper bei 100° sich zersetzte, indem er sowohl Wasser wie Ammoniak abgab und reines Hämatinsäureanhydrid zurückliess. Letztes krystallisiert sofort nach dem Erkalten in seiner charakteristischen Form aus.

0,921 gr Substanz verloren beim Trocknen bei 100° bis zum konstanten Gewicht 0,254 gr Wasser und Ammoniak.

Berechnet für $2 NH_3 + 2 H_2O$:	Gefunden:
27,56 Proz.	27,58 Proz.

Es blieben 0,667 gr $C_8 H_8 O_5$ zurück, was genau der berechneten Menge entspricht.

Zur Entscheidung der Frage, ob ein Diammoniumsalz von der Formel:

$$C_6 H_6 \cdot \begin{matrix} COONH_4 \\ COONH_4 \\ OH \\ OH \end{matrix} + H_2O$$

oder ein Monoammoniumsalz, das zugleich Säureamid ist, von der Formel:

$$C_6 H_6 \cdot \begin{matrix} COONH_4 \\ CO \cdot NH_2 \\ OH \\ OH \end{matrix} + 2\,H_2O$$

vorliegt; oder ob sich etwa

$$C_5 H_7 \begin{matrix} CO \\ CO \\ COONH_4 \end{matrix} \!\!> NH + 3\, H_2O$$

gebildet hatte, wurde das Silbersalz des Reaktionsprodukts dargestellt und zwar durch Fällen der alkoholischen Lösung desselben mit Silbernitrat.

Dabei aber bildete sich Ammoniumnitrat und das Silbersalz der dreibasischen Hämatinsäure, was durch folgende Analyse nachgewiesen wurde:

0,224 gr des ausgefallenen, weissen Silbersalzes, das bei 100° getrocknet wurde, ergaben 0,1515 gr Kohlendioxyd, 0,03 gr Wasser und 0,138 gr Silber.

Berechnet für $C_8 H_7 Ag_3 O_6$:	Gefunden:
C = 18,33 Proz.	18,44 Proz.
H = 1,34 „	1,48 „
Ag = 61,87 „	61,60 „

Demnach scheint sich das primär gebildete Säureamid sofort unter Aufnahme von 1 Molekül Wasser in das Diammoniumsalz zu verwandeln.

Wenn auch die angegebene Reaktion viel eher für die Annahme einer Dioxydikarbonsäure sprach, schien es angezeigt, durch Darstellung eines haltbareren, primären Anlagerungsproduktes mit einer andern Base Aufklärung zu suchen. Als solche wurde Anilin gewählt.

Einwirkung von Anilin auf das Anhydrid der dreibasischen Hämatinsäure.

1 gr reines Anhydrid wurde in der gerade nötigen Menge wasserfreien, über Natrium destillierten Äthers gelöst und 3 gr frisch destilliertes Anilin zugegeben. Es bildete sich zunächst ein schmieriger Niederschlag, der sich aber schon bei gelindem Erwärmen auf dem Wasserbade löste, dann aber bei fortgesetztem Erwärmen sich als weisses, amorphes Pulver abschied.

Von diesem wurde sofort abgesaugt, mit wasserfreiem Äther nachgewaschen und im Vakuum getrocknet.

Der Körper schmilzt bei 69°—70°, ist löslich in viel kaltem Wasser, sehr schwer in Äther und unlöslich in Chloroform und Petroläther.

Die Analyse ergab, dass 2 Moleküle Anilin aufgenommen wurden.

0,185 gr Substanz lieferten bei der Verbrennung 0,105 gr Wasser und 0,440 gr Kohlendioxyd.

Die Stickstoffbestimmungen wurden nach DUMAS ausgeführt und ergaben:

I. 0,212 gr Substanz lieferten bei 730 mm Barometerstand und einer Temperatur von 12° C. 14,6 ccm Stickstoff.

II. 0,116 gr Substanz lieferten bei 736 mm Barometerstand und 20° C. 8,0 ccm Stickstoff.

Berechnet für $C_8 H_8 O_5 (NH_2 C_6 H_5)_2$:		Gefunden:	
	$(C_{20} H_{22} N_2 O_5)$	I.	II.
C =	64,86 Proz.	64,86 Proz.	— Proz.
H =	5,94 „	6,30 „	— „
N =	7,56 „	7,84 „	7,77 „

Wird dieses Produkt mit heissem Wasser behandelt, so löst es sich zunächst vollständig auf; nach kurzem Kochen im Kölbchen über freiem Feuer schied sich jedoch Anilin in öligen Tropfen ab. Die Flüssigkeit wurde sofort vom ausgeschiedenen Anilin durch einen Heisswassertrichter abfiltriert und das Filtrat erkalten gelassen.

Bald nach dem Erkalten war die ganze Flüssigkeit zu prächtigen, weissen Nadeln erstarrt, die zur Entfernung noch anhängenden Anilins aus wenig heissem Wasser umkrystallisiert wurden.

Nach dem Trocknen im Vakuum zeigte sich der Körper in Form weisser, glänzender Schuppen; sein Schmelzpunkt lag jetzt bei 110°.

Wie die Analyse erwies, hatte sich 1 Molekül Anilin abgespalten.

I. 0,131 gr Substanz lieferten bei der Verbrennung 0,061 gr Wasser und 0,302 Kohlendioxyd.

II. 0,097 gr Substanz lieferten 0,0487 gr Wasser und 0,216 gr Kohlendioxyd.

Die Stickstoffbestimmung nach DUMAS gab folgendes Resultat:

0,208 gr Substanz lieferten bei 733 mm Barometerstand und 22° C. 10,2 ccm Stickstoff.

Berechnet für $C_8 H_8 O_5$ ($NH_2 C_6 H_5$):		Gefunden:	
($C_{12} H_{15} NO_5$)		I.	II.
C = 60,64 Proz.		62,87 Proz. [1])	60,73 Proz.
H = 5,41 „		5,17 „	5,58 „
N = 5,05 „		— „	5,35 „

Nach diesen Resultaten darf man wohl annehmen, dass sich in $C_8 H_8 O_5$ nur 2 Carboxylgruppen befinden, von denen die eine zur Laktonbildung gedient hat.

Mit Ammoniak bildet sich: $C_6 H_6 \begin{matrix} COONH_4 \\ CO \quad NH_2 \\ OH \\ OH \end{matrix} + 2 H_2 O$

mit Anilin: $C_6 H_6 \begin{matrix} COONH_3 C_6 H_5 \\ CO \quad NH\,C_6 H_5 \\ OH \\ OH \end{matrix}$

Beim Kochen mit Wasser wird die Anilidgruppe verseift unter Rückbildung der Anhydridbindung. Der dabei entstandene Körper wäre dann als das Anilinsalz des Hämatinsäureanhydrids aufzufassen.

In $C_8 H_8 O_5$ müsste demnach noch eine freie Hydroxylgruppe anzunehmen sein, weshalb ein

1) Der zu hohe Kohlenstoffgehalt rührt wohl daher, dass eine Reinigung des Körpers mit Tierkohle vorgenommen werden musste, was beim zweiten Präparat (Analyse II) unterlassen wurde.

Acetylierungsversuch des Hämatinsäure-anhydrids

gemacht wurde. 1 gr reines Anhydrid wurde mit 1 gr wasserfreien, essigsauren Natriums und einem Überschuss von Essigsäureanhydrid am Rückflusskühler im Kölbchen eine halbe Stunde lang erwärmt. Unter Bräunung der ganzen Masse trat alsbald eine starke Reaktion ein. Die ölige Flüssigkeit wurde noch warm in viel kaltes Wasser gegossen und behufs Zerstörung von Essigsäureanhydrid über Nacht in der Kälte stehen gelassen. Am andern Morgen hatte sich eine braune, schmierige Masse abgeschieden, die von der Flüssigkeit durch Abfiltrieren getrennt und besonders behandelt wurde.

Aus dem Filtrat wurde die Essigsäure durch Abdestillieren im Vakuum entfernt, der Rückstand in Wasser aufgenommen, mit verdünnter Schwefelsäure angesäuert und ausgeäthert. Nach dem Verjagen des Äthers blieb ein brauner, dicker Syrup zurück, der nach Leuchtgasrückständen roch. Er löste sich im Natriumkarbonat unter Aufbrausen, war aber auf keine Weise zu reinigen oder zum Krystallisieren zu bringen.

Ebensowenig konnte die oben erwähnte schmierige Masse analysenrein erhalten werden. Sie ist nur in Alkohol löslich und reagiert neutral. Durch Eingiessen der alkoholischen Lösung in Wasser, das einige Tropfen verdünnter Schwefelsäure enthält, konnte sie als amorphes braunes Pulver erhalten werden.

Ebenso wie dieser Versuch, ein freies Hydroxylamin in der Hämatinsäure nachzuweisen, blieb auch die Benzoylierung resultatlos. Ein Kondensationsprodukt mit Hydroxylamin konnte auch nicht erhalten werden.

Wie schon erwähnt, wurde ich durch die geringen Ausbeuten zu der Annahme gebracht, dass die Hämotrikarbonsäure nicht aus der zweibasischen, sondern aus der dreibasischen Hämatinsäure $C_8 H_{10} O_6$ entsteht. Diese Annahme wurde bestätigt durch die

Reduktion des Anhydrids der dreibasischen Hämatinsäure $C_8 H_8 O_5$.

Als Ausgangsmaterial wurde reines Anhydrid verwendet, das aus dem Calciumsalz gewonnen war. Letzteres war vorher analysiert worden und hatte dabei folgende Resultate geliefert:

0,166 gr Substanz gaben 0,0470 Calciumoxyd = 0,03355 Calcium.

Berechnet für $C_{32} H_{28} Ca_5 O_{23}$:	Gefunden:
Ca = 20,40 Proz.	20,21 Proz.

1 gr dieser reinen Substanz wurde genau auf dieselbe Weise reduziert, wie das Rohprodukt der zweibasischen Hämatinsäure und jetzt erhielt ich etwa 65 bis 70 Prozent Ausbeute an ziemlich reiner Hämotrikarbonsäure.

Identifiziert mit der aus jenem Rohprodukt erhaltenen Säure wurde dieselbe durch die Eigenschaft, Kaliumpermanganat in alkalischer Lösung auch nach tagelangem Stehen nicht zu entfärben, ferner durch die Krystallform, den Schmelzpunkt, der wiederum bei 145° lag, und das noch zu erwähnende, ausserordentlich charakteristische Zinksalz.

Um sie im Vergleich zur dreibasischen Hämatinsäure als Trikarbonsäure zu charakterisieren, versuchte ich in ebenderselben Weise, wie bei ersterer, das Anilinsalz darzustellen. Es konnte aber nur ein ganz geringer Teil eines weissen, pulverigen Salzes erhalten werden, der andere schied sich in Form einer in fast allen in Betracht kommenden Lösungsmitteln unlöslichen Schmiere aus. Der Grund davon mag wohl in der Bildung des Salzes einer isomeren Säure liegen.

Der Schmelzpunkt des pulverigen Salzes lag bei 188°.

Leider musste infolge Mangels an Material auf eine Analyse verzichtet werden, doch will ich nach Darstellung grösserer Mengen den Versuch wieder aufnehmen.

Die Eigenschaften und Salze der Hämotrikarbonsäure sind bereits erwähnt. Ich will nur noch anführen, dass dieselbe

von den bisher bekannten Säuren von der empirischen Formel $C_8 H_{12} O_6$ am meisten und auffallendsten der von AUWERS, KÖBNER und von MEYENBURG [1]) synthetisch dargestellten Äthyltrikarballylsäure gleicht. [2])

Der Übersicht halber seien hier die Eigenschaften der von den genannten Forschern synthetisch erhaltenen Äthyltrikarballylsäure und diejenigen meiner durch Reduktion gewonnenen Hämotrikarbonsäure einander gegenübergestellt:

Synthetisch erhaltene	Durch Reduktion aus dreibasischer Hämatinsäure gewonnene
Säure $C_8 H_{12} O_6$.	
Krystallisiert in kugeligen Aggregaten, glänzender, schiefwinkliger Prismen.	Krystallisiert in dünnen Prismen.
Schmelzpunkt 147° — 148°.	Schmelzpunkt 145°.
Ist in reinem Wasser und Alkohol sehr leicht löslich.	Ist leicht löslich in Wasser und Alkohol.
Schwerlöslich in heissem Äther.	Langsam in kaltem und schwer löslich in heissem Äther.
Unlöslich in Benzol und Ligroin.	Unlöslich in Benzol und Ligroin.
Das Silbersalz fällt als weisser, voluminöser Niederschlag aus, der sich ohne Zersetzung trocknen lässt. Die Analyse stimmt auf $C_8 H_9 Ag_3 O_6$.	Das Silbersalz zeigt dieselben Eigenschaften. Die Analyse stimmt ebenfalls auf $C_8 H_9 Ag_3 O_6$.
Kupfersulfat fällt aus der siedenden Lösung des Ammoniaksalzes der Säure ein grün-	Beim Fällen der mit Ammoniak neutralisierten, wässerigen Lösung der Säure mit

1) Ber. d. d. chem. Ges. 24a, 310 und 24b, 2897.

2) Die Dioxyhexahydrophtalsäure A. v. BAEYER's konnte hier nicht in Betracht kommen, da sie beim Erhitzen mit Jodwasserstoff Hexahydrophtalsäure giebt.

blaues, amorphes, in Wasser unlösliches Salz aus.

Setzt man zu einer etwa 10 prozentigen, wässerigen Lösung des Ammoniumsalzes der Säure Zinksulfat im Überschuss hinzu, so bleibt die Flüssigkeit bei Zimmertemperatur klar, bei längerem Kochen scheidet sich dagegen das Zinksalz der Säure in Gestalt eines weissen krystallinischen Niederschlags aus. Beim Erkalten der Flüssigkeit löst sich das Salz wieder auf.

Eisenchlorid giebt beim Erwärmen einen braunen, gelatinösen Niederschlag.

Die Titration zeigt die dreibasische Natur der Säure an.

Kupfersulfat wurde ebenfalls ein grünblaues, amorphes Kupfersalz erhalten von der Formel $(C_8 H_9 O_6)_2 Cu_3$.

Zeigte in genau derselben Weise dieses ausserordentlich charakteristische Verhalten des Zinksalzes.

Giebt ebenfalls den braunen, gelatinösen Niederschlag.

Die Titration lässt ebenfalls auf die dreibasische Natur der Säure schliessen.

Wenn auch durch vorliegende Arbeit noch immer kein sicherer Schluss auf die Konstitution der Hämatinsäure gezogen werden kann, so darf man doch bestimmt die Hoffnung hegen, dass dieselbe, wenn man erst vollends über die Schwierigkeiten der mühseligen Darstellung und Reinigung des Ausgangsmaterials hinweg ist, in Bälde aufgeklärt sein wird.